

(様式4)

## 学位論文の内容の要旨

柳澤邦雄印

(学位論文題名)

Gene polymorphisms of mannose-binding lectin confer susceptibility to  
*Pneumocystis pneumonia* in HIV-infected patientsマンノース結合レクチン遺伝子多型は進行期HIV感染者の  
ニューモシスチス肺炎発症に影響する

(学位論文の要旨)

ニューモシスチス肺炎（PCP）は後天性免疫不全症候群（AIDS）と定義される日和見感染症の中で、我が国最多の疾患である。また末梢血CD4陽性細胞数（CD4数） $200/\mu\text{l}$ 以下への低下が発症危険因子とされている。しかし当院で経験したPCPでのAIDS発症者においては、初診時CD4数は $200/\mu\text{l}$ を下回る傾向を認めながら、ある程度の幅を認める。またCD4数 $200/\mu\text{l}$ 以下でPCPを回避している症例も一定数認められる。進行期HIV感染者において、CD4数以外の要因がPCPの発症を規定している可能性が考えられるが、この視点での先行研究は乏しい。

PCPはヒトに親和性をもつニューモシスチス真菌（*Pneumocystis jirovecii*：以下Pc）により引き起こされる。宿主肺胞内に侵入したPcはまずパターン認識受容体（PRR）や抗体、補体といった分子群の結合を受けたのち、肺胞マクロファージによって処理される。近年これらPRRの遺伝子多型に基づく構造異常、量的低下・欠乏が真菌感染の感受性に影響するとの報告が複数みられ、特にマンノース結合レクチン（MBL）は遺伝子多型と血中濃度、各種感染症への感受性の関連がよく研究されている。しかしPCP発症率とMBLの関連をみたものは、腎移植後における検討が一報認められる程度である（Schürmann M et al. Transpl Immunol 2013）。またMBLは低産生型の遺伝子多型が日本人の30-40%に認められるが、我が国のHIV感染者における研究が見当たらないことから、PCP発症における危険因子の一つとしてMBL遺伝子多型の関与があるか検討することにした。

解析対象は2012年7月までに当院を受診した179名のHIV感染者の内、①定期通院中で検体採取・解析に同意を得たもの、②初診時CD4数がPCP発症危険域の $200/\mu\text{l}$ 以下であるもの、とし最終的に53名が抽出された。これらの患者の診療録を後ろ向きに評価し、30例を初診時PCP発症群（以後PCP群）、23例をPCP非発症群（以後non-PCP群）と定義した。各患者から文書同意取得後、定期通院時に末梢血を採取しゲノム抽出と血清分離後、冷凍保存した。ヒトでMBLをコードする遺伝子：*MBL2*については、プロモーター領域からexon1まで6か所のSNPが知られており、これらを内包するようなゲノムPCRを実施。ダイレクトシーケンス法で塩基配列とgenotype、haplotypeを決定した。血清sample中のMBL濃度はELISA法によって評価した。

PCP群とnon-PCP群において、年齢、性別、初診時CD4数、HIV-RNA量、白血球数、リンパ球数、単球数の中央値に有意差を認めなかった。シーケンス結果から得られたhaplotypeは、既報に準じて①MBL高産生型、および②低産生ないし欠損型の2つに区分した。解析の結果、non-PCP群においてプロモーター：nt-550のH/H typeが有意に多く、MBL高産生型genotypeの比率が有意に高かった。また血清MBL随時濃度中央値もPCP群よりnon-PCP群の方が有意に高かった。

上記のような臨床検体における検討を踏まえ、PCP発症におけるMBLの宿主保護的な役割を検証するためにin

in vitro実験系を作成した。真菌感染におけるMBLの防御作用は、オプソニン作用、補体活性化作用、サイトカイン産生刺激作用などが報告されているが、PCPモデルマウス系の導入が研究環境上困難であったために、ラットカリニ肺炎モデルより精製された菌体（rat-Pc）と、ヒト単球系細胞株（THP-1）からPMA（Phorbol 12-myristate 13-acetate）刺激で誘導したマクロファージの相互作用による貪食アッセイを作成した。蛍光ラベルしたrat-Pc、あるいはマクロファージを0-3000 ng/mlのヒト組み換えMBLで処理し、96ウェルプレート上で2時間インキュベーションした。その後マクロファージに取り込まれた菌体量を細胞の蛍光度としてプレートリーダーシステムにより評価した。その結果、菌体を先にMBL処理した場合は3000ng/ml、マクロファージをMBL処理した場合は1000ng/mlで最大の貪食効率を認めた。補体系の関与を明らかにするため、加熱非動化血清を用いた条件と、MBL欠損ボランティアから提供された非加熱血清を用いた条件を比較したが、同様の傾向であった。限定的な実験系ではあるが、MBL添加により菌体と貪食細胞を介在する直接オプソニン作用が確認され、最大貪食効率を与えるMBL濃度は臨床検体で確認される血清濃度範囲内にあった。臨床的にMBL低産生者のPCP発症率が高かったのは、このMBLによる直接オプソニン作用が弱いことが一因と推察された。

PCPは多因子疾患だが、CD4数に加えてあらたなPCPの危険因子を抽出できた可能性がある。PCP予防を検討する臨床場面において、遺伝子多型に基づくMBL産生能の評価は臨床判断の一助となるかもしれない。